Lane Medical Library

Tritt nach der Ausschaltung der Leber beim Kaltblüter Milchsäure im Harn auf?

INAUGURAL-DISSERTATION,

WELCHE

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN UND CHIRURGIE

MIT ZUSTIMMUNG

DER MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT ZU BERLIN

am 8. März 1888

NEBST DEN ANGEFÜGTEN THESEN

ÖFFENTLICH VERTHEIDIGEN WIRD

DER VERFASSER

Eberhard Nebelthau

aus Bremen.

OPPONENTEN:

Hr. Dd. med. Vollrath Kettler.
- Dd. med. Wilhelm Gehrke.
- Cand. med. Fritz Firgau.

BERLIN.

Buchdruckerei von Gustav Schade (Otto Francke).

Linienstr. 158.

Um den Einfluss der Leber auf den Stoffwechsel klarzustellen, benutzte man am häufigsten die vergleichende Untersuchung des Pfortader- und Lebervenenblutes. Nachdem Flügge[1]) dargethan, dass diese Methode nicht zum Ziele führen könne, wandte man sich der künstlichen Durchblutung zu, die günstigere Verhältnisse bot. So fand v. Schroeder[2]), dass die Leber im Stande sei, kohlensaures Ammoniak in Harnstoff umzuwandeln, nicht aber die Niere und der Muskel.

In richtiger Würdigung des grossen Unterschiedes der im lebenden Organismus sich abspielenden Vorgänge und derjenigen bei der künstlichen Durchblutung versuchte v. Schroeder[3]), die Leber bei Hunden aus der Circulation auszuschalten. Er sah insofern eine Bestätigung seines bei der künstlichen Durchblutung

---

[1]) Flügge, Ueber den Nachweis des Stoffwechsels in der Leber. Zeitschr. für Biol. Bd. XIII. 1877.

[2]) Ueber die Bildungsstätte des Harnstoffes. Archiv für Path. und Pharm. Bd. XV, S. 364. 1882.

[3]) Die Bildung des Harnstoffs in der Leber. Archiv für exp. Path. und Pharm. Bd. XIX, S. 373. 1885.

erhaltenen Resultates eintreten, als eine Umwandelung von eingeführtem Ammoniak in Harnstoff nicht mehr stattfand.

Die Hunde konnten übrigens nicht länger als 1 bis $2^1/_2$ Stunden nach der Operation am Leben erhalten werden.

Günstigere Resultate erzielte Minkowski[4]) an Gänsen, bei denen er die Leber theils durch Unterbindung der zuführenden Gefässe ausschaltete, theils exstirpirte. Wenige Thiere starben 5 bis 6 Stunden nach der Operation, einzelne lebten länger bis zu 20 Stunden.

Die quantitativen Untersuchungen des Harns normaler und operirter Gänse ergaben unter anderem folgende Resultate:

Die Stickstoffausscheidung betrug bei den entleberten Gänsen etwa die Hälfte bis $^2/_3$ der von gesunden Gänsen.

Die nach der Leberexstirpation ausgeschiedenen Harnsäuremengen betrugen 3 bis 6% des Gesammtstickstoffs, während sie vor der Exstirpation 60 bis 70% betrugen.

Nach der Ausscheidung der Leber tritt regelmässig eine sehr erhebliche Vermehrung des Ammoniaks im

---

[4]) Ueber den Einfluss der Leberexstirpation auf den Stoffwechsel. Archiv für exp. Path. und Pharm. Bd. XXI, S. 41. 1886. Minkowski's vorläufige Anzeige über diese Arbeit. Centralbl. für med. Wiss. 1885. No. 2.

Harn auf. Es beträgt 50 bis 60% des Stickstoffs und nahm also diejenige Stelle ein, die in der Norm der Harnsäure zukommt.

Bei Berücksichtigung der Schröder'schen[5]) Versuche, denen zufolge Ammoniak, das man in den Organismus der Vögel einführt, fast vollständig in Harnsäure umgewandelt wird, kann es daher kaum noch zweifelhaft sein, dass die synthetische Umwandlung des Ammoniaks in Harnsäure im Organismus der Vögel nur bei erhaltener Leberfunktion stattfinden kann.

Der Harnstoffgehalt des Harns nach der Entleberung hatte eine erhebliche Veränderung nicht erfahren.

Von den stickstofffreien Bestandtheilen im Harn entleberter Gänse ist die optisch-aktive Fleischmilchsäure die am reichlichsten vorhandene Substanz, während sie im Normalharn nicht nachgewiesen werden konnte. Sie betrug bis über die Hälfte aller nicht flüchtigen Harnbestandtheile und wurde im aequivalenten Verhältniss zum Ammoniak ausgeschieden. Ihre Menge stieg mit vermehrter Zufuhr von stickstoffhaltiger Nahrung.

Die Betrachtung dieser Befunde legt den Gedanken nahe, dass die Milchsäure unter normalen Verhält-

---

[5]) Ueber das Verhältniss des Ammoniak und der primären Monaminbasen zur Harnstoffbildung im Thierkörper. Archiv für exper. Path. und Pharm. Bd. VIII, S. 14. 1877.

nissen zu der Bildung von Harnsäure verwandt wird. Auf die Möglichkeit dieser Annahme hat schon v. Schroeder[6]) hingewiesen.

Am Schlusse seiner Arbeit macht Minkowski besonders darauf aufmerksam, dass die an einer Thierklasse gemachten Beobachtungen, vor allem, wenn sie sich auf das Gebiet des Stoffwechsels beziehen, nicht direkt auf eine andere zu übertragen sind.

An diesem Grundsatz festhaltend und angeregt durch den günstigen Erfolg, den Moleschott[7]) und Külz[8]) mit der Leberexstirpation bei Fröschen aufweisen konnten, erschien eine Prüfung der Frage, ob nach Ausschaltung der Leber auch beim Kaltblüter Milchsäure im Harn auftritt, wohl von Interesse zu sein.

Als ich mich mit derselben bereits eingehender beschäftigt hatte, erschien aus dem physiologischen Institut zu Breslau eine Arbeit von Marcuse[9]) unter Leitung von Röhmann, in deren zweitem Theile er nachgewiesen zu haben glaubte, dass nach der Leberexstirpation Milchsäure im Froschharn auftritt.

---

[6]) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. II, S. 288. 1877.

[7]) Untersuchung über die Bildungsstätte der Galle. Archiv f. phys. Heilk. Jahrgang 2, S. 479.

[8]) Arbeiten aus dem physiol. Institut zu Marburg. Pflüger's Arch. Bd. XXIV.

[9]) Ueber die Bildung von Milchsäure bei der Thätigkeit des Muskels und ihr weiteres Schicksal im Organismus. Pflüger's Arch. Bd. XXXIX, S. 425. 1886.

Seine Behauptung gründet Marcuse zunächst auf eine Farbenreaction, für die er Uffelmann[10]) als Gewährsmann angiebt. Er sagt darüber: „Setzt man zu einer sehr stark verdünnten, kaum gefärbten Lösung von neutralem Eisenchlorid eine geringe Menge Milchsäure, so färbt sich die Flüssigkeit sofort in charakteristischer Weise intensiv gelb. Dieselbe Reaction giebt sowohl Fleisch-, wie Gährungsmilchsäure und deren Salze. Diese ausserordentlich empfindliche Reaction liess sich auch bei der Untersuchung des Froschharns verwenden und gestattete mit Leichtigkeit den Nachweis auch von Spuren von Milchsäure resp. deren Salze in ihm.“

Die Prüfung des Froschharns mit Eisenchlorid giebt nach Marcuse bei erhaltener Leberfunktion keine Gelbfärbung, nach der Leberexstirpation tritt eine deutliche Gelbfärbung ein. Somit ist nach ihm der Beweis geliefert, dass der Minkowski'sche Versuch auch für den Frosch Geltung hat.

Eine solche Bedeutung durfte Marcuse dem Eintreten der Gelbfärbung wohl ohne Weiteres nicht beimessen. Die Möglichkeit, dass ein anderer Körper als die Milchsäure im Froschharn auch eine Gelbfärbung auf Zusatz von Eisenchlorid verursachen könne, lässt Marcuse unberücksichtigt. Ebensowenig

---

[10]) Methoden des Nachweises freier Säuren im Mageninhalt. Zeitschrift für klinische Medicin. Bd. VIII, S. 392. 1884.

giebt er an, dass er die Cautelen, die Uffelmann für seine Reaction fordert, und auf die wir weiter unten zurückkommen, beachtet hat.

Eine weitere Stütze glaubt Marcuse dann seiner Behauptung noch dadurch zu verleihen, dass er Milchsäure aus dem Froschharn darzustellen sucht. „Aus dem Harn einer Anzahl Frösche, deren Leber exstirpirt war, wurden 0,0754 Gramm milchsaurer Kalk mit 21,22% Crystallwasser erhalten.“ Von einer weiteren Charakterisirung musste Abstand genommen werden, da alles durch ein Missgeschick verloren ging. Die Behauptung, dass die erhaltene crystallinische Menge milchsaurer Kalk sei, stützt sich also allein auf die Crystallwasserbestimmung. Die Menge (0,0754 gr) aber, die er darstellt, verleiht dieser Bestimmung keineswegs eine erhöhte Beweiskraft. Sie scheint auch nicht im Einklang zu stehen mit der eigenen Ansicht Marcuse's von der Zweckmässigkeit, möglichst grosse Mengen zur Untersuchung zu verwenden. Auf eben solchen Widerspruch möchten wohl die Mengen hinweisen, die Marcuse den Nachweis liefern, dass Milchsäure nach Strychnintetanus im Froschharn auftritt. Er wandte in einem Versuche 36 ccm, in dem andern 85 ccm Froschharn an und erhielt 0,0326 gr resp. 0,073 gr milchsaures Zink. Beide Mengen genügen ihm nicht nur wieder zu Crystallwasserbestimmungen, die das gewünschte Resultat ergeben, er vermag auch aus den 0,073 gr milchsauren Zink noch ein Kalksalz darzustellen, dessen

Crystallwassergehalt gut mit der theoretisch geforderten Zahl übereinstimmt.

Nach Veröffentlichung dieser von Marcuse erhaltenen Resultate schien eine genaue Prüfung der vorliegenden Frage nicht nur nicht überflüssig, sondern durchaus wünschenswerth.

Als einzigen Weg, der zum Ziele führen könnte, betrachtete ich den Versuch, die Milchsäure aus dem Harn entleberter Kaltblüter in Substanz darzustellen, nachdem ich zuvor in gleicher Weise den normalen Harn der Kaltblüter auf seinen Gehalt an Milchsäure untersucht hatte. Um zu exacten Resultaten zu gelangen, kam es natürlich darauf an, möglichst reichliches Material zur Verarbeitung herbeizuschaffen. Zu diesem Zwecke wurden zunächst an grösseren Kaltblütern als an Fröschen Versuche angestellt. Ich verfiel dabei auf Flussschildkröten. Zum Auffangen des Harns schien folgende Vorrichtung besonders geeignet zu sein. Die Thiere wurden einzeln auf einen Glasteller gesetzt, der mit einem erhöhten Rand versehen war und in der Mitte eine Oeffnung mit einem daran geschmolzenen gläsernen Abflussrohr hatte. Auf den Teller wurde ein passender grosser Trichter gestülpt und durch Hineinhängen von angefeuchtetem Fliesspapier die Luft unter demselben feucht erhalten. Von selbst entleerten die Thiere ihren Harn erst nach mehreren Tagen spärlich. Durch mechanische Reize in der Gegend der Cloakenöffnung brachte es jedoch der Diener bald dahin, dass die

Thiere zu bestimmter Zeit in kürzeren Intervallen Harn entleerten. Die Schwierigkeiten, welche die Schildkröten der Leberexstirpation entgegen setzten, auf deren Details ich aber nicht eingehen will, wurden sehliesslich überwunden. Sie starben erst am 5.—7. Tage, es war jedoch nach der Operation kein Harn mehr zu gewinnen. Bei zwei Karettschildkröten von 7 und 8 kg, die mir vor der Operation durch Kathetrisirung Morgens und Abends 5—15 ccm Harn vom spez. Gewicht 1,009—1,015 lieferten, hatte ich keinen günstigeren Erfolg zu verzeichnen. Das eine Thier starb bereits vor der Operation, das andere, nachdem es Mittags operirt, in der folgenden Nacht und lieferte in dieser Zeit ebenfalls keinen Harn mehr.*)

Nach diesen Misserfolgen an Schildkröten wandte ich mich dem Frosch als Versuchthier zu.

Zur Gewinnung des normalen Froschharnes wurden 600 aus Schlesien bezogene Frösche (Rana esculenta) verschiedener Grösse in einem grossen Froschbehälter gehalten, der bis zu einer bestimmten Höhe mit Wasser gefüllt war. Durch Hineinsetzen einer

---

*) Die bezüglich der Zusammensetzung des normalen Schildkrötenharns ermittelten Befunde übergehe ich, da die weiteren Versuche zu keinem Ziele führten. Die Möglichkeit, dass bei einer weiteren Ausbildung des operativen Verfahrens auch bei den Schildkröten noch Harn zu gewinnen sein wird, soll damit keineswegs bestritten werden.

schiefen Ebene wurde den Thieren auch der Aufenthalt im Trocknen ermöglicht. Der Aufenthalt im Wasser steigerte die Lebhaftigkeit der Harnsecretion. Das Wasser wurde vor jeder Harngewinnung abgelassen und nach derselben erneuert. Gefüttert wurden die Thiere mit Mehl und Regenwürmern.

Neun Wochen hindurch wurde nun von diesen Fröschen 2 mal täglich der Harn durch Ausdrücken gewonnen. Häufig, besonders wenn die Thiere durch das wiederholte Hineingreifen in den Behälter lebhaft geworden, war die Mühe allerdings vergeblich. Immerhin wurden auf diese Weise im Verlaufe von 9 Wochen $10^1/_2$ Liter normaler Froschharn gesammelt.

Geringe Beimengungen von Koth*), die sich bei dieser Art der Gewinnung nicht völlig vermeiden liessen, wurden sofort mit einem Glaslöffel entfernt und der Harn sodann noch filtrirt. Das Filtrat wurde den vorher gewonnenen Portionen hinzugefügt und auf dem Wasserbade vorsichtig eingedampft. Da sich die Sammlung des Harns über mehrere Wochen erstreckte wurde zeitweilig ein Tropfen einer kaltgesättigten Sublimatlösung hinzugesetzt, um Zer-

---

*) Nach Verarbeitung von 9 Liter normalen Froschharn erwies sich, wie aus dem weiter unten erwähnten Resultat hervorgeht, diese Verunreinigung für das Auftreten der Milchsäure im Harn als bedeutungslos. Würde das Resultat positiv ausgefallen sein, so hätte natürlich eine Untersuchung der Excremente auf Milchsäure folgen müssen.

setzungen des Harns durch niedere Organismen vorzubeugen.

Der Harn von entleberten Fröschen wurde zunächst auf dieselbe Weise gewonnen, nur dass die Thiere täglich 4 mal ausgedrückt wurden. Mit Eintreten der kühleren Witterung wurde der Froschbehälter in die Nähe eines geheizten Ofens gestellt. Es lieferten mir 431. operirte Frösche 2691 ccm Harn.

Die Entleberung wurde im Allgemeinen nach den Angaben von E. Külz[11]) ausgeführt. Es wurde ein Schnitt unter Schonung der Vena abdominalis dicht neben der Meridianlinie geführt und dann durch seitliches Streichen mit den Fingern die Leber zum Hervortreten aus der Schnittwunde gebracht. Während ich den rechten Leberlappen gesondert abband, schnürte ich die beiden linken Leberlappen zusammen ab, weil mir dadurch eine ausgiebigere Entfernung der Leber möglich schien, ohne im Gebiete der Vena cava inferior eine Circulationsstörung hervorzurufen, die bei gründlicher Abschnürung der ganzen Leber durch eine Ligatur leicht herbeigeführt werden kann und dann um so schneller den Tod verursacht. Der Muskelschnitt und Hautschnitt wurden sorgfältig durch je 4 bis 5 Nadeln wieder verschlossen.

Die Thiere nahmen nach der Operation eine ruhigere Haltung an. Sie frassen nicht mehr von selbst, erbrachen wohl das vor der Operation zu sich ge-

---

[11]) Vergl. die erwähnte Arbeit.

nommene Futter, resorbirten aber noch reichlich Wasser. Sie starben, wenn die Operation gut ausgeführt war, durchschnittlich am 3.—4. Tage, manchmal aber erst am 6.—7. Tage, in den meisten Fällen augenscheinlich an den Folgen der Circulationsstörung im Gebiet der Vena portarum und Vena abdominalis. Kurz vor dem Tode verfiel ein Theil, besonders noch in der wärmeren Jahreszeit, in ausgesprochenen Tetanus. Krampfanfälle hat Minkowski auch bei Gänsen nach der Leberexstirpation beoabachtet und möchte dieselben und den darauf eintretenden Tod auf eine Intoxication mit giftigen Producten des Stickstoffumsatzes, vielleicht speciell mit Ammoniak zurückgeführt wissen. Manchmal schien es mir, als ob die tetanischen Anfälle ausgelöst wurden durch die Erschütterung beim Herantreten an den Behälter.

Beschleunigend auf den Eintritt des Todes wirkte offenbar die Manipulation des viermaligen täglichen Ausdrückens der Blase, denn einige der Frösche, die nicht länger als 2 oder 3 Tage ausgedrückt wurden, lebten noch am 7.—9. Tage.

Aus der oben beschriebenen Art der Gewinnung des Harns konnte natürlich auf die Menge der Secretion bei Fröschen vor und nach der Operation kein Schluss gezogen werden.

Das spezifische Gewicht des normalen Harns mit der Mohr-Westphal'schen Waage bestimmt, betrug höchstens 1,0015, des Harns von operirten Fröschen höchstens 1,0025.

Die Reaction war beim normalen Harn sehr schwach sauer bis neutral, beim Harn von operirten neutral, nach 1- bis 2 tägigem Stehen bald alkalisch, falls man nicht Sublimat hinzufügte.

Der Harn der intacten Frösche enthielt nach je einer Bestimmung 0,1062%, der der entleberten 0,140% feste Bestandtheile.

Zur Bestimmung von Ammoniak nach Schlösing verwandte ich in einem Versuch 50 ccm von jeder Harnsorte. Der Normalharn enthielt 0,0054% Ammoniak; der Harn von entleberten Fröschen 0,0122% Ammoniak. In diesem Falle also ungefähr um die Hälfte mehr, als der normale. Freilich wird bei einem so diluirten Harn die Differenz nur mit grosser Vorsicht zu verwerthen sein.

Schwefelsäure konnte durch Bariumchlorid und Salzsäure, Salzsäure durch Silbernitrat und Salpetersäure, Phosphorsäure durch Salpetersäure und molybdänsaures Ammon, sowohl vor als nach der Leberexstirpation nachgewiesen werden.

Da die Frage nach dem Vorhandensein von Harnsäure im Anschluss an die Ausführungen Minkowski's von besonderem Interesse waren, so habe ich es nicht unterlassen, den Rückstand von eingedampften Froschharn sowohl normaler als operirter Thiere wiederholt durch Anstellung der Murexidprobe auf Harnsäure zu prüfen. Die Prüfung fiel stets negativ aus, ebenso die der Niederschläge bei der Verarbeitung des Gesammtmaterials mit Alkohol.

Ich habe ferner einen Liter normalen Froschharn nach stärkerer Einengung mit Salzsäure versetzt und nach 48 Stunden in dem Niederschlage weder mikroskopisch, noch mit der Murexidprobe Harnsäure nachweisen können. Damit ist jedoch keineswegs gesagt, dass der Froschharn keine Harnsäure enthält.

Denn durch die Untersuchungen von Naunyn und Riess[12]) und E. Külz[13]) ist es bekannt, dass in gewissen diabetischen Harnen durch Salzsäure die Harnsäure nicht abgeschieden werden kann. Es hat ferner Salomon[14]) für den Schweineharn, der bis dahin für harnsäurefrei galt, nachgewiesen, dass sich mit Hülfe der Salkowski'schen[15]) Methode die Anwesenheit dieser Säure wohl constatiren lässt.

Harnstoff, der, wie schon bekannt, im Harn nackter Amphibien vorkommt, habe auch ich aus dem normalen Froschharn in Substanz dargestellt.

Ich benutzte dazu (wie Minkowski bei seinen Versuchen an Gänsen) die wässerige Lösung des Alkoholextractes, und zwar von 9 Litern normalen Frosch-

---

[12]) Ueber Harnsäure-Ausscheidung. Reichert's u. du Bois-Reymond's Archiv. 1869. Heft 3.

[13]) Ueber Harnsäure-Ausscheidung in einem Falle von Diabetes mellitus. Reichert's und du Bois-Reymond's Archiv. 1870. pag. 293—303.

[14]) Ueber die chemische Zusammensetzung des Schweineharns. Virchow, Archiv für pathologische Anatomie. Bd. 95, S. 527. 1884.

[15]) Salkowsky & Leube, Die Lehre vom Harn. S. 96.

harn, nachdem sie bereits zur Untersuchung auf Milchsäure mit Aether ausgeschüttelt war. Nachdem die Lösung vom Aether befreit, wurde sie mit Phosphorwolframsäure ausgefällt und das Filtrat mit Bariumcarbonat versetzt. Nach der Neutralisation wurde vom überschüssigen Bariumcarbonat abfiltrirt, das Filtrat bei mässiger Wärme eingeengt und unter fernerer Neutralisation mit Bariumcarbonat der Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd ausgefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wurde in Wasser aufgenommen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Von Schwefelquecksilber wurde die Flüssigkeit abfiltrirt und, nachdem das Schwefelquecksilber auf dem Filter gehörig ausgewaschen, das Filtrat unter Zusatz von Bariumcarbonat eingedampft. Nach der Extraction des Rückstandes mit absolutem Alkohol schieden sich aus dem eingeengten Alkoholextract Crystalle aus, deren Gesammtgewicht 0,25 g betrug. Dieselben erwiesen sich durch ihren Schmelzpunkt, der bei 132° bis 134° lag, und durch das charakteristische Verhalten gegen Salpetersäure als Harnstoff. 0,27 g Harnstoff war, wie weiter unten ausgeführt wird, bei der Ausschüttelung des Alkoholextractes mit Aether in den letzteren mit übergegangen.

Nach dem angeführten Verfahren konnte ich aus dem Harn von entleberten Fröschen (2691 ccm und 7800 ccm) keinen Harnstoff darstellen. Auch war bei den Verarbeitungen dieser Mengen auf Milchsäure kein Harnstoff nachweislich mit in den Aether übergegangen,

wie bei der Verarbeitung des normalen Froschharns auf Milchsäure. In Anbetracht des sehr geringen Gehalts des normalen Froschharns an Harnstoff, sowie der immerhin complicirten Methode der Darstellung desselben, darf man aus diesen beiden Versuchen wohl nicht ohne weiteres den Schluss ziehen, dass nach der Leberexstirpation bei Fröschen die Harnstoffausscheidung absolut aufhöre. Indessen will ich die Möglichkeit nicht unausgesprochen sein lassen. Der Befund, den genauer zu controliren ich mir vorbehalte, würde übrigens in gutem Einklang zu den erwähnten Erfahrungen von Schröder stehen.

Dieses sind kurz die beiläufig gemachten Untersuchungen am Froschharn.

Während der zur Sammlung des Materials nothwendigen Zeit beschäftigte ich mich mit der Darstellung der Fleischmilchsäure und ihrer Salze aus Fleischextract.

Bei diesen Vorübungen wandte ich zunächst die Methode an, deren sich auch Minkowski bei Darstellung der Milchsäure bediente. Es wird der Alkohol-Auszug mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt, mit Bleizucker und Bleiessig ausgefällt, mit Schwefelwasserstoff entbleiet, und nachdem zur Vertreibung der Essigsäure und des Schwefelwasserstoffs wiederholt eingedampft, das Filtrat mit Zinkcarbonat gekocht. Ich erhielt bei meiner Verarbeitung des Fleischextractes auf diese Weise eine beträchtliche Verunreinigung des milchsauren Zinks durch

schwefelsaures Zink. Es sei auch an dieser Stelle besonders wieder darauf hingewiesen, wie es bereits R. Böhm[16]) gethan, dass beim Ausschütteln mit Aether stets geringe Mengen Schwefelsäure in den Aether mit übergehen, eine Thatsache, die bei quantitativen Bestimmungen Berücksichtigung finden muss.

Da Marcuse sich derselben Methode bedient hat, es aber an einer näheren Charakterisirung seines milchsauren Zinkes fehlen lässt, kann man auch nicht ersehen, dass er diesen Umstand bei der Diagnose des milchsauren Zinks beachtet hat.

Bei der Verarbeitung des Froschharns bediente ich mich des Verfahrens*), welches von R. Böhm in der oben erwähnten Arbeit[16]) angegeben ist, da bei diesem auf die Beseitigung der Schwefelsäure aus dem Aetherextract die gehörige Rücksicht genommen ist.

Zuerst wurden 9 Liter von den erwähnten $10^1/_2$ Li-

---

[16]) Ueber das Verhalten des Glykogen und der Milchsäure im Muskelfleisch, mit besonderer Berücksichtigung der Todtenstarre. Pflüger's Archiv. Bd. XXIII, S. 45. 1880.

*) Durch einen besonderen Versuch überzeugte ich mich, dass ich auf Zusatz einer gewogenen Menge milchsauren Kalkes zu normalem Froschharn, nachdem derselbe als milchsäurefrei erkannt, nach diesem Verfahren zwar nicht die ganze Menge wieder gewann, wie man bei der complicirten Methode auch nicht erwarten kann, wohl aber den grössten Theil. Somit glaube ich dieses Verfahren auch bei der Verarbeitung des Froschharnes mit Recht angewandt zu haben.

tern des normalen Froschharns, die in der beschriebenen Weise eingedampft, auf Milchsäure untersucht.

Der eingedampfte Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen und zwei Mal mit dem 8 fachen Volumen 96% Alkohol extrahirt. Der Alkoholauszug wurde abfiltrirt, der Alkohol abdestillirt und der Rückstand, nachdem er mit Schwefelsäure stark ansäuert, mit dem 10 fachen Volumen Aether 6 Mal ausgeschüttelt. Dann wurde mit Bariumcarbonat neutralisirt, wodurch die Schwefelsäure als schwefelsaures Barium ausfiel, während die etwa vorhandene Milchsäure als milchsaures Barium in Lösung blieb. Zu dem Filtrat wurde aus einer Bürette schwefelsaures Zink tropfenweise hinzugesetzt, um das milchsaure Barium, falls es darin gelöst war, in milchsaures Zink umzuwandeln. Es entstand nur eine geringe Opaleszenz, die auf Ueberführung gelösten Bariumcarbonats in schwefelsaures Barium zurückzuführen war, worauf Böhm in seiner Arbeit aufmerksam macht.

Das Filtrat wurde durch Eindampfen auf ein möglichst kleines Volumen gebracht. Es crystallisirten dann helle glänzende Nadeln aus, deren Gesammtgewicht etwa 0,27 g betrug. Die Crystalle verbrannten, ohne Asche zu hinterlassen und enthielten Stickstoff. Der Schmelzpunkt lag bei 131,5—132,5°. Das charakterische Verhalten gegen Salpetersäure liess keinen Zweifel übrig, dass die erhaltene Substanz Harnstoff sei, jedenfalls kein milchsaures Zink.

So habe ich denn in 9 Liter normalen Froschharn keine Fleischmilchsäure nachweisen können. Die Behauptung Marcuse's, dass normaler Froschharn keine Milchsäure enthält, die er aufstellt, weil auf Zusatz von Eisenchlorid keine Gelbfärbung eintritt, würde durch diesen Versuch somit eine Stütze erhalten.

Nach diesem Resultate konnte an die Verarbeitung der 2691 ccm Harn von entleberten Fröschen geschritten werden. Ich richtete mich dabei auch insofern nach den Angaben Böhms, als ich die Aetherausschüttelung 6 Stunden lang mit dem 10—12fachen Volumen Aether fortsetzte und den Aether nach einer jeden Stunde erneuerte. Nachdem der Aetherrückstand mit Bariumcarbonat neutralisirt, nahm ich die Ueberführung der etwa gelösten Bariumsalze in Zinksalz mit schwefelsaurem Zink, wie oben beschrieben, vor. Es entstand ein minimaler Niederschlag, der natürlich auch zum Theil auf gelöstes Bariumcarbonat zurückzuführen war.

Das Filtrat wurde zunächst auf etwa 12 ccm eingedampft und im Halbschatten-Apparat bei einer Rohrlänge von 200 mm auf sein Drehungsvermögen geprüft. Es konnte weder von mir noch von geübterer Seite eine Drehung constatirt werden.

Beim weiteren Eindampfen schied sich eine so geringe Menge von Crystallen an der Wandung des Glasschälchens aus, dass an einen Versuch, sie zu charakterisiren, nicht gedacht werden konnte. Dazu

ergab sich noch bei der Prüfung auf Schwefelsäure, dass bei der Umlegung des Bariumsalzes ein minimaler Ueberschuss von schwefelsaurem Zink hinzugesetzt war.

Aus 2691 ccm Harn von entleberten Fröschen war es mir also nicht möglich gewesen, Milchsäure als solche in Form ihres Zinksalzes darzustellen.

Das Erscheinen der Arbeit von Marcuse, welche die gegentheilige Behauptung enthielt, allerdings auf Grund einer anderen Untersuchsmethode, veranlasste mich, noch einen Versuch in grösserem Umfange anzustellen. Auch bei diesem Versuch galt mir wieder die Darstellung der Milchsäure in Substanz als Ziel.

Es wurden aus Clausenburg 300 Frösche bezogen. Das mittlere Gewicht, berechnet aus einer Wägung von 12 Thieren verschiedener Grösse, betrug 125 gr. Von diesen operirte ich innerhalb 4 Tagen 265 in der angegebenen Weise. Die Operation so vieler Exemplare konnte in so kurzer Zeit nur dadurch ermöglicht werden, dass mir bei der Vorbereitung der Thiere zur Operation und beim Vernähen der Schnittwunden reichliche Assistenz zur Seite stand. Bei der Operation unterband ich zugleich möglichst weit unten den Dickdarm, um ein weiteres Passiren der Fäces zu verhindern. Eine ausgiebigere Gewinnung an Froschharn als bisher erzielte ich, indem ich dabei den Angaben Marcuse's folgte. Nach der Entleberung wurde vermittelst einer Hakenpinzette die Haut

um den Kloakenausgang hoch gehoben, und mit einem Faden fest zusammengeschnürt. So wurde jeder Verlust von abgesondertem Harn vermieden. Morgens und Abends wurde dann der Knoten gelöst, die Blase ausgedrückt und der Kloakenausgang wieder zugeschlungen. Bei dieser Behandlungsweise behielt ich die Thiere in der Regel 4 Tage am Leben. Um den Stoffwechsel der so operirten Thiere trotz der Jahreszeit für die Zwecke der vorliegenden Untersuchung möglichst günstig zu gestalten, wurden die Thiere in einem stark geheizten Zimmer gehalten, und zwar stand der Froschbehälter in der Nähe des Ofens. Im Ganzen gewann ich 7800 ccm Harn.

Am ersten Tage nach der Entleberung lieferten sie einzeln bis zu 15 ccm, die folgenden Tage immer weniger.

Auch an dem Harn dieser ungarischen Frösche habe ich noch einige allgemeine Bestimmungen ausgeführt, die hier kurz ihren Platz finden sollen.

Die Reaction des normalen Froschharns war wiederum sehr schwach sauer bis neutral, des Harns von operirten Fröschen neutral.

Das spezifische Gewicht des normalen Harns betrug höchstens 1,001, des Harns von operirten Fröschen höchstens 1,002.

100 ccm normalen Harns ergaben einen festen Rückstand von 0,1529 g.

100 ccm Harn von operirten Fröschen 0,2809 g.

Der Ammoniakgehalt, zu dessen Bestimmung

ich je 50 ccm verwandte, betrug beim normalen Harn 0,0102%, beim Harn von operirten Fröschen 0,0154%.

Die 7800 ccm Froschharn wurden nun in derselben Weise verarbeitet wie die 2691, nur dass ich zur Neutralisirung des Rückstandes nach Verjagung des Aethers statt Bariumcarbonat eine verdünnnte Lösung von Bariumhydrat nahm, das durch wiederholtes Umcrystallisiren gereinigt war. Dieses wurde tropfenweise aus einer Bürette hinzugesetzt. Vom ausgefallenen schwefelsauren Barium wurde abfiltrirt. Beim Umlegen des gelösten Bariumsalzes in das Zinksalz mit schwefelsaurem Zink entstand ein beachtenswerther Niederschlag von schwefelsaurem Barium. Mit dem Filtrat vereinigte ich die Lösung der kleinen Menge Crystalle, die ich aus der Verarbeitung der 2691 ccm erhalten hatte, nachdem ich zuvor die erwähnte Verunreinigung beseitigt hatte.

Auf dem Wasserbade eingeengt, schieden sich schliesslich aus dem braunen dünnen Syrup eine kleine Menge Crystalle aus, deren Gesammtgewicht 0,1279 g betrug. Die Crystalle waren frei von Schwefelsäure, Chlor und Stickstoff.

In 10 ccm Wasser gelöst, zeigten sich nach längeren Zeitabschnitten wiederholt mit dem Halbschattenapparat im 200 mm langen Rohr untersucht ein Drehungsvermögen von — 0,2% auf Traubenzucker bezogen. Der Befund wurde stets von geübter Seite controlirt und bestätigt.

Da die freie Milchsäure rechts dreht, wurde Schwefelsäure im Ueberschuss hinzugesetzt und von Neuem

die Drehung bestimmt. Es wurde optische Inactivität constatirt, also Aufhören der Linksdrehung. Von einer Bestimmung des Krystallwassergehaltes, sowie von einer Elementar-Analyse musste bei so geringer Substanzmenge selbstverständlich Abstand genommen werden. Eine kleine Menge der Crystalle in Wasser gelöst, ergab, mit Eisenchlorid geprüft, eine deutliche Gelbfärbung.

Von einer Verwendung dieser Farbenreaction zum Nachweis der Milchsäure im Froschharn haben wir von vornherein Abstand genommen. Als nun die Arbeit von Marcuse erschien, haben auch wir den Harn entleberter Frösche nach seinen Angaben geprüft und uns über den Werth der Eisenchlorid-Reaction zu unterrichten gesucht. Handelt es sich um reine Lösungen von Milchsäure oder milchsauren Salzen, so ist die Reaction in der That sehr empfindlich. 5 Cubiccentimeter einer Lösung, die 0,04‰ reine Milchsäure enthält, geben eine deutliche Reaction, 5 Cubiccentimeter einer Lösung, die 0,001‰ milchsaures Barium oder eben so viel paramilchsaures Zink enthält, lässt das Eintreten einer Gelbfärbung noch eben erkennen. Uffelman[10]) hat die Reaction für die freie Milchsäure des Mageninhaltes angegeben. Er macht darauf aufmerksam, dass Substanzen wie Weinsäure, Citronensäure, Ameisensäure dieselbe auch geben, er erwähnt ferner, dass dieselbe durch Peptone gar nicht, sehr wenig durch gelöste Albuminate und durch Salze bei saurer Reaction der Lösung gestört

werde, wohl aber durch grösseren Gehalt an Phosphaten und so lange alkalische Reaction vorherrscht. Diese die Reaction störenden Momente kommen bei der Prüfung des Magensaftes kaum jemals oder nur selten in Betracht.

Anders liegen die Verhältnisse beim Harn entleberter Frösche. Die Reaction desselben ist neutral. Auf Zusatz von Eisenchlorid tritt zufolge einer grossen Reihe von Versuchen ein Niederschlag von phosphorsaurem Eisen ein, der die Reaction beeinträchtigt. Filtrirt man vom Niederschlage ab, so erscheint derselbe auf dem Filter etwas gelblich gefärbt, während das Filtrat fast wasserhell aussieht. Auf weiteren Zusatz von Eisenchlorid zum Filtrat entsteht eine Gelbfärbung, die zu erkennen mehr im Bereiche des guten Willens liegt. Auch beim Harn einer Anzahl entleberter Frösche, die, um ihren Stoffwechsel wesentlich zu steigern, nach den Angaben von Hugo Schulz[17]) in Wasser von 32°—35° gehalten wurden, konnten wir keine anderen Wahrnehmungen machen. Denselben Vorgang sahen wir sich aber auch in einzelnen Fällen mehr oder minder deutlich beim normalen Froschharn nach Zusatz von Eisenchlorid abspielen. So konnten wir beim besten Willen nicht die Ueberzeugung gewinnen, dass sich mit dieser Reaction ein sicherer und unantastbarer Nachweis der Milchsäure im Harn

---

[17]) Abhängigkeitsverhältnisse zwischen Stoffwechsel und Körpertemperatur bei den Amphibien. Pflüger's Archiv. Bd. XIV.

entleberter Frösche führen lässt, wie es Marcuse annimmt.

Das Resultat meiner Untersuchungen war demnach folgendes, dass ich aus 10,490 Liter Harn von entleberten Fröschen 0,1279 gr eines Zinksalzes darstellte, das zwei Eigenschaften mit dem paramilchsauren Zink theilte, nämlich die Linksdrehung und Gelbfärbung nach Zusatz von Eisenchlorid. Gegen Paramilchsäure würde ferner nicht der Umstand sprechen, dass nach Zusatz von Schwefelsäure die Linksdrehung verschwand. Denn eine Rechtsdrehung nach Zusatz von Schwefelsäure, obwohl sie der freien Milchsäure zukommt, konnte nicht erwartet werden, da nach den Beobachtungen von Wislicenus diese theoretisch berechnet so gering ausfallen musste, dass sie in die Fehlergrenzen des Beobachtungsvermögens fiel. Ganz abgesehen davon, dass die freie Milchsäure unter verschiedenen Umständen verschieden stark, selbst gar nicht dreht. Die Crystallform wurde auch mit beobachtet, man ist jedoch hierbei, wie ich mich mehrfach zu überzeugen Gelegenheit hatte, zu grossen Täuschungen ausgesetzt, als dass ich die Aehnlichkeit der erhaltenen Crystalle mit denen des paramilchsauren Zinkes für eine positive Antwort mitverwerthen möchte.

Ich bin nach alledem nicht in der Lage, die Ausscheidung der Milchsäure nach Exstirpation der Leber so stricte zu behaupten, wie es Marcuse gethan hat. Es kann aber auch weder in der geringen

Menge des von Marcuse angewandten Materials noch in der von ihm geübten Art des Nachweises der Paramilchsäure eine Berechtigung zu jener Behauptung gesehen werden*).

---

*) Um eine endgültige Entscheidung herbeizuführen, habe ich noch einen weiteren Versuch angestellt, aber leider auch vergeblich. Ich hoffte nämlich, dass amerikanische Ochsenfrösche mir bei ihrer grossen Gefrässigkeit einen Harn von grösserem Gehalt an festen Bestandtheilen liefern würden. Ich liess daher 7 Dutzend dieser Thiere aus Baltimore kommen. Von diesen kamen 9 Stück lebend an, 6 starben dann noch bald nach der Ankunft, die drei übrigen behielten auch in Europa ihre Gefrässigkeit bei, indem sie kleinere Frösche verschlangen, lieferten mir aber trotzdem nach der Leberexstirpation keinen Harn von höherem spezifischen Gewicht als die europäischen. Ich gewann im Ganzen von diesen 3 Thieren 280 ccm Harn. Eine deutliche Gelbfärbung auf Zusatz von Eisenchlorid sah ich bei wiederholter Prüfung einzelner Portionen eben so wenig eintreten.

THESEN.

I.

Das Auftreten von Milchsäure im Harn von Kaltblütern nach der Leberexstirpation ist noch nicht sicher erwiesen.

II.

Bei Carcinom des cervix ist die Totalexstirpation des Uterus indicirt.

III.

Bei Behandlung der Schrumpfniere ist auf eine schonende und kräftigende Diät für das Herz das Hauptgewicht zu legen.

Lebenslauf.

Johann Eberhard Nebelthau, Sohn des Senators August Nebelthau, wurde geboren zu Bremen am 14. September 1864. Er besuchte das Gymnasium daselbst und verliess dasselbe Ostern 1884 mit dem Zeugnis der Reife.

Von Ostern 1884 bis Michaelis 1885 studirte er in Bonn Medicin; von dort begab er sich nach Marburg, wo er bis Michaelis 1887 seine Studien fortsetzte. Seit Michaelis 1887 hält er sich in Berlin auf.

Im Juli 1886 bestand er das Physicum, am 3. Febr. 1888 das Tentamen medicum und am 10. Februar 1888 das Examen rigorosum.

Während seiner Studienzeit besuchte er die Vorlesungen, Kliniken und Curse folgender Herren:

Ahlfeld, von Bergmann, Clausius, Frerichs, Gerhardt, Gräf, Hüter, Kekulé, Koch, Külz, von Lavalette-St. George, Leydig, Lieberkühn, Mannkopff, Marchand, Melde, Meyer, Olshausen, Pflüger, Roser, Rubner, Schmidt-Rimpler, Strahl, Zinke.

Allen diesen Herren, seinen hochverehrten Lehrern, spricht der Verfasser seinen aufrichtigen Dank aus.